



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

**Facultad de Medicina Veterinaria**

**Escuela Profesional de Medicina Veterinaria**

**Efecto de la aplicación de plasma seminal, GnRH y  
ablación folicular sobre la dinámica folicular en llamas  
(*Lama glama*)**

**TESIS**

**Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario**

**AUTOR**

**Nancy Milagros SILVA HUANCA**

**ASESOR**

**Mg. Wilfredo HUANCA LÓPEZ**

**Lima, Perú**

**2019**



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

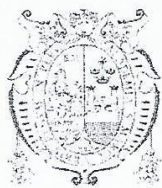
Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Silva N. Efecto de la aplicación de plasma seminal, GnRH y ablación folicular sobre la dinámica folicular en llamas (*Lama glama*) [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria; 2019.

---



Universidad Nacional Mayor de San Marcos  
Universidad del Perú, Decana de América  
Facultad de Medicina Veterinaria  
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria

## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO

En el Auditorio Principal de la Facultad de Medicina Veterinaria, el **viernes 06 de diciembre de 2019**, a las 09:00 horas, se constituyó el Jurado Examinador designado mediante Resolución Directoral N° 0196-EPMV/FMV-2019, integrado por los siguientes profesores:

MV. Dr. Alexei Vicent Santiani Acosta	Presidente del Jurado
MV Mg. Wilfredo Huanca López	Asesor de la Tesis
MV. Mg. Adriana Pilar Urviola García	Miembro del Jurado
MV. Mg. Luis Manuel Barrios Arpi	Miembro del Jurado

Luego de la instalación del Jurado, a cargo del Presidente del Jurado y bajo la dirección del mismo, la Bachiller Doña: **SILVA HUANCA, NANCY MILAGROS** para optar el Título Profesional de Médico Veterinaria, procedió a sustentar públicamente la Tesis:

**“EFECTO DE LA APLICACIÓN DE PLASMA SEMINAL, GnRH Y ABLACIÓN FOLICULAR SOBRE LA DINÁMICA FOLICULAR EN LLAMAS (*Lama glama*)”,**

Luego de absolver las preguntas del Jurado y del público asistente, el Jurado deliberó con la abstención reglamentaria del Asesor de la Tesis y acordó su **APROBACIÓN** por **UNANIMIDAD**, otorgándole la nota de **DIECISIETE (17)**.

Habiéndose aprobado la sustentación pública de la Tesis, el Presidente en representación del Jurado recomienda que la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria proponga la aprobación del **TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIA** a la Facultad de Medicina Veterinaria y que ésta proponga al Rectorado el otorgamiento respectivo.

Siendo las **10:00 horas**, concluyó el acto académico de sustentación pública de Tesis en fe de lo cual suscriben la presente acta por cuadruplicado los integrantes del Jurado:

Alexei Vicent Santiani Acosta: MV. Dr. Prof. Principal T.C.

Wilfredo Huanca López: MV. Mg. Prof. Principal D.E.

Adriana Pilar Urviola García: MV. Mg. Prof. Auxiliar T.C.

Luis Manuel Barrios Arpi: MV. Mg. Prof. Auxiliar T.C.



## DEDICATORIA

A Dios, por ser quien hizo posible el desarrollo y culminación del presente trabajo.

A Santiago Silva, mi papá, gracias por haber confiado en mí pese a los contratiempos, y sobre todo por tomar mis logros como los tuyos. Espero poder traerte aún más alegrías en conjunto con mi hermana. Te amamos, papi.

A Francisca Silva, mi tía, sé que criarme, al igual que a mis tíos, ha sido una ardua labor, por ello le agradezco a nuestro Señor por tu vida. Para mí, siempre serás un ejemplo de fortaleza.

A mis “platanitas”, es gracias a ustedes que pude tener una experiencia inolvidable de esta etapa universitaria. Tal vez sea la primera de nuestro grupo de amigas en dar este paso, pero sé que sus logros serán mil veces mejores. Las quiero mucho, chicas.

A Deysi, Yasha, Diego y Piero; por ser quienes de alguna manera me motivaron a estudiar esta hermosa carrera de Medicina Veterinaria, más que mis mascotas fueron como mis amigos, hermanos e hijos.

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios, por ser quien siempre estuvo a mi lado y me ayudó a levantarme cuando quería darme por vencida.

Al Dr. Wilfredo Huanca, por su paciencia y confianza en la culminación no solo de este proyecto, sino también en anteriores salidas a campo. De igual forma, mi especial agradecimiento a Fahrid, por su apoyo y dedicación durante el planteamiento y desarrollo de la parte experimental del presente trabajo.

A todas las personas que me dieron palabras de aliento y me animaron a continuar, en especial a mis amigas de la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNMSM (FMV-UNMSM): Cinthya, Estefany, Karol, Kelly, Leslie, Lina, Liz, Luz, Maritza y Mayra. Gracias por su apoyo en el transcurso de la redacción de este trabajo.

Al Dr. Guido Medina y a todo el equipo del Centro de Investigación y Producción La Raya de la Universidad Nacional del Altiplano, Puno; por brindarnos las facilidades en la realización del presente trabajo.

Al grupo de amigos y compañeros que me apoyaron durante el trabajo en campo: Alfredo, Anthony, Brayan, Fahrid, Kelly y Luis. Sin ustedes, este trabajo no se hubiera podido llevar a cabo correctamente.

A los miembros del Laboratorio de Biotecnología Reproductiva Animal de la FMV-UNMSM: Carito, Fahrid, Fred, Juan Carlos, Melania y Renato. Sus consejos y guía fueron de gran ayuda para mí.

Al proyecto: “Rol del plasma seminal en la fisiología reproductiva y aplicación de biotecnologías en camélidos. Secreción del oviducto, calidad del ovocito desarrollo embrionario temprano y criopreservación de semen”, Código: 149-2017- FONDECYT/CONCYTEC, por el financiamiento del presente trabajo.

## ÍNDICE

	Pag.
<b>RESUMEN</b> .....	i
<b>ABSTRACT</b> .....	ii
<b>LISTA DE CUADROS</b> .....	iii
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	iv
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> .....	3
<b>2.1. ANATOMÍA DEL APARATO REPRODUCTOR FEMENINO DE LA LLAMA</b> .....	3
<b>2.2. FISIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE LA LLAMA HEMBRA</b> .....	4
2.2.1. Pubertad .....	4
2.2.2. Comportamiento sexual de la hembra y conducta de monta .....	5
2.2.3. Estacionalidad reproductiva .....	7
2.2.4. Mecanismo neuroendocrino en la foliculogénesis .....	8
<b>2.3. DINÁMICA FOLICULAR EN CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS</b> .....	10
2.3.1. Dinámica folicular en ausencia de ovulación .....	10
2.3.2. Ovulación inducida por monta natural o uso de plasma seminal .....	14
2.3.3. Ovulación inducida por el uso de métodos hormonales .....	17
<b>2.4. CUERPO LÚTEO EN CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS</b> .....	18
<b>2.5. SINCRONIZACIÓN DE LA ONDA FOLICULAR</b> .....	20
2.5.1. Métodos hormonales .....	21
2.5.2. Métodos no hormonales .....	22
<b>2.6. ULTRASONOGRAFÍA EN REPRODUCCIÓN</b> .....	23
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	25
<b>3.1. LUGAR DE ESTUDIO</b> .....	25
<b>3.2. TAMAÑO DE LA MUESTRA</b> .....	25
<b>3.3. UNIDADES EXPERIMENTALES</b> .....	26
<b>3.4. OBTENCIÓN DEL PLASMA SEMINAL</b> .....	26
<b>3.5. PROCEDIMIENTO DE ABLACIÓN FOLICULAR</b> .....	27
<b>3.6. DISEÑO EXPERIMENTAL</b> .....	27
<b>3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO</b> .....	29
<b>IV. RESULTADOS</b> .....	30
<b>V. DISCUSIÓN</b> .....	32

<b>VI.</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>36</b>
<b>VII.</b>	<b>RECOMENDACIONES .....</b>	<b>37</b>
<b>VIII.</b>	<b>LITERATURA CITADA .....</b>	<b>38</b>
<b>IX.</b>	<b>APÉNDICE .....</b>	<b>46</b>



## RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto del plasma seminal, GnRH y ablación folicular sobre la dinámica folicular en llamas. El estudio se desarrolló en la sede del Centro de Investigación y Producción La Raya (CIP – La Raya), Puno, durante el mes de enero del 2018. Para ello, se utilizaron 24 llamas que contaban con un folículo pre-ovulatorio entre 7 a 17 mm basado en la ultrasonografía vía transrectal. Las llamas fueron distribuidas aleatoriamente en los siguientes tratamientos: T1 (n=6): 1 ml PBS IM; T2 (n=6): 2 ml plasma seminal IM; T3 (n=6): 1 ml GnRH IM; T4 (n=6): ablación folicular. Los animales fueron evaluados cada dos horas desde las 20 hasta las 36 horas post tratamiento para determinar la ovulación y posteriormente con una frecuencia diaria, mediante ecografía transrectal durante 15 días, para determinar la emergencia de una nueva onda folicular y a la aparición del nuevo folículo dominante. Los resultados obtenidos indican que no existe diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) tanto en el intervalo de la ovulación al estimular con GnRH o PS, en llamas; al igual que entre el uso de cualquiera de los tratamientos evaluados con respecto al intervalo de tiempo a la aparición de los folículos  $\geq 3$  mm y al intervalo al nuevo folículo dominante, post-estímulo; demostrando el efecto similar que tendrían los tratamientos sobre la dinámica folicular en llamas.

**Palabras clave:** llamas, plasma seminal, dinámica folicular

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate effect of seminal plasma, GnRH and follicular ablation on the follicular dynamic in llamas. The experiment took place in January 2018, at the Centre of Research and Production La Raya (CIP – La Raya) in Puno. For this, we used twenty-four llamas with presence of a pre-ovulatory follicle between 7 to 17 mm diagnosed by transrectal ultrasonography. Animals were randomly assigned among this treatments: T1 (n=6): 1 ml PBS IM; T2 (n=6): 2 ml seminal plasma IM; T3 (n=6): 1 ml GnRH IM; T4 (n=6): follicular ablation. All animals were evaluated every two hours since the twenty to thirty-six hours after the treatment application to establish ovulation interval. Then these evaluations were done one per day during two weeks to determine intervals from treatment to emergence of the new follicular wave and presence of the new dominant follicle. Results obtained show there is no significant difference ( $p < 0.05$ ) for interval from administration of GnRH or seminal plasma to ovulation in llamas. Also, intervals from use of any treatment evaluated in this study to observation of follicles  $\geq 3$  mm and to the day it appears the new dominant follicle are similar between groups. Showing that GnRH, seminal plasma and follicular ablation have a similar effect on follicular dynamic in llamas.

**Key words:** llamas, seminal plasma, follicular dynamic

## LISTA DE CUADROS

	Pag.
Cuadro 1. Tratamientos experimentales .....	28
Cuadro 2. Intervalo en días desde la aplicación de los tratamientos hasta la aparición de folículos $\geq 3$ mm y folículos $\geq 7$ mm en llamas (promedio $\pm$ desviación estándar).....	30
Cuadro 3. Intervalo en horas desde la aplicación de los tratamientos hasta la ovulación y tamaño del cuerpo lúteo al día 8 post aplicación de los tratamientos, en llamas (promedio $\pm$ desviación estándar) .....	31

## LISTA DE FIGURAS

	Pag.
Fig 1. Diseño experimental.....	28

## I. INTRODUCCIÓN

Los camélidos sudamericanos son especies económicamente importantes sobre todo para los pobladores altoandinos, no únicamente por su buena capacidad de adaptación a alturas por encima de los 4000 m.s.n.m., sino también debido a la producción de su fibra y carne; y en tiempos pasados con el fin de transportar cargas pesadas (Huanca *et al.*, 2007).

Una característica propia de los camélidos es su condición de ovuladores inducidos, según ha sido demostrado en llamas (England *et al.*, 1969) y alpacas (San Martín *et al.*, 1968; Fernández-Baca *et al.*, 1970). Por ello, generalmente no ocurre ni el proceso de ovulación ni desarrollo de un cuerpo lúteo en ausencia de cópula, resultando finalmente en la atresia del folículo dominante de dicha onda folicular (Sumar *et al.*, 2000). Sin embargo, existe un 5% de animales que, si bien no son servidas por un macho, debido a estímulos a nivel olfatorio, auditivo o visual, ovulan “espontáneamente” (Fernández-Baca *et al.*, 1970).

En la última década se ha incrementado el desarrollo de biotecnologías reproductivas como alternativas para apoyar al mejoramiento genético en camélidos sudamericanos, y entre ellas el control del desarrollo folicular (Trasorras *et al.*, 2013). Estudios previos han empleado tratamientos hormonales para ejercer manipulación sobre el crecimiento folicular ovárico, siendo necesaria la ausencia del folículo dominante (folículo  $\geq 7$  mm) para una óptima respuesta folicular. Sin embargo, se han reportado protocolos de superestimulación ovárica con presencia de folículos  $> 5$  mm, que resultaron en el crecimiento de ese único folículo (Miragaya *et al.*, 2006).

La eliminación del folículo dominante se puede realizar mediante la inducción de la ovulación, comúnmente con hormonas, o mediante ablación folicular. Sin embargo, los estudios realizados empleando tratamientos hormonales en base a análogos de gonadotropinas y hormonas esteroideas para obtener la sincronización de la emergencia de una nueva onda folicular, han concluido en resultados variables (Tibary, 2018).

Diversos estudios han demostrado que en el plasma seminal del macho existe un componente proteico denominado factor inductor de la ovulación (OIF), que en realidad es un Factor de crecimiento neural (NGF), el cual es el responsable de inducir la ovulación en lo camélidos (Adams *et al.*, 2005; Kershaw-Young *et al.*, 2012; Ratto *et al.*, 2012).

Se han realizado estudios en distintas especies a manera de evaluar el efecto del plasma seminal, como en el en caso de superestimulación ovárica en ratones (Bogle *et al.*, 2011). Sin embargo, en un estudio realizado en novillas, no indujo la ovulación de estas, sino que aceleró tanto la regresión del folículo dominante, así como la aparición de la nueva onda folicular (Tanco *et al.*, 2013).

Dado que aún se desconoce los efectos del plasma seminal como sincronizador de una nueva onda folicular y sus diferencias con los otros tratamientos hormonales y no-hormonales, dentro de los objetivos del presente estudio están el evaluar los distintos efectos de la aplicación de plasma seminal, GnRH y ablación folicular sobre la dinámica folicular en llamas.

## **II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1. ANATOMÍA DEL APARATO REPRODUCTOR FEMENINO DE LA LLAMA**

Los ovarios son aquellos órganos pares ubicados en la cavidad abdominal, en la región sublumbar, los cuales se encuentran sostenidos por el mesovario; estos presentan una superficie irregular, lobular, con folículos, cuerpos lúteos y *corpus albicans* (León, 2009). Dichas estructuras pueden medir en promedio 20 mm y 8 mm, de largo y de ancho, respectivamente (Smith *et al.*, 1994).

Los oviductos o tubas uterinas son conductos tubulares y sinuosos suspendidos en la cavidad abdominal por el mesosalpinx, que conecta al ovario con el útero y tienen entre 10 a 18 cm de longitud. Dicha estructura se dilata en su segmento próximo al ovario generando el infundíbulo de la trompa uterina, mientras que en su extremo uterino su diámetro es más delgado que su opuesto ovárico (León, 2009).

El útero es una estructura muscular hueca y bicornes, conformada también por el cuerpo del útero y la cérvix. Presentan diferencias en el tamaño entre los dos cuernos, siendo el cuerno derecho en poca medida más pequeño, con respecto a su opuesto. Internamente, se aprecia el velo uterino, el cual es una proyección de la mucosa que divide ambos cuernos. El cuerpo del útero es ligeramente corto, de forma

tubular y aplanado dorso ventralmente. La cérvix es una estructura estrecha de 2 a 5 cm de largo, a manera de esfínter, con un canal sinuoso y corto (León, 2009).

La vagina presenta 15 a 21 cm y 5 cm, de longitud y diámetro, respectivamente. Dicha estructura presenta un fórnix pequeño y lateralmente dos proyecciones hacia el útero. El vestíbulo vaginal, donde se encuentra el orificio uretral externo, es el que separa la vagina de la vulva (León, 2009). Los labios de la vulva tienen una longitud de 5 cm. Siendo muy semejante su anatomía del aparato reproductor femenino al reportado por Sato *et al.* (1986) en la alpaca.

## **2.2. FISIOLÓGÍA REPRODUCTIVA DE LA LLAMA HEMBRA**

### **2.2.1. Pubertad**

La etapa de la pubertad se logra obtener al contar con la capacidad de liberar gametos; de esta manera, los animales consiguen mostrar una verdadera conducta sexual y adquieren su capacidad reproductiva. Las concentraciones circulantes de gonadotropinas se verán aumentados a inicios de la pubertad, debido a este aumento de la amplitud y de la frecuencia de los pulsos periódicos de tales sustancias, se dará inicio a la actividad cíclica del ovario. Esto debido a las hormonas esteroideas, conectado sobre todo al incremento funcional de la Hormona Liberadora de Gonadotropinas o GnRH (Hafez y Hafez, 2000).

Otros estudios reportan que la hormona leptina es pieza clave para la producción de GnRH y posterior actuación del eje hipotálamo-hipofisiario-gonadal. A su vez, ha sido reportado por Mantzoros (2000) y Cervero *et al.* (2006), que al comienzo de la pubertad existe un incremento de los niveles de leptina, indicando una estrecha relación entre ambos.

La etapa de la pubertad en hembras se ve grandemente afectado por la condición corporal, necesitando aparentemente los dos tercios de su peso de adulto (Leyva y Sumar, 1981). Dependiendo del peso, las hembras camélidas pueden mostrar conducta de receptividad al año de edad (Novoa *et al.*, 1972), sin embargo, se demostró



que la actividad ovárica en la alpaca puede iniciar incluso a los 10 meses; y en el caso de las llamas, puede iniciar desde los 6 meses, aunque su madurez sexual recién se da a partir de los 2.5 años de edad (Novoa *et al.*, 1972; Sumar, 1985).

En Perú, a las alpacas no es común servir las antes de los 2 años de edad (y antes de los 3 años de edad en llamas) en consecuencia, a las características de las pasturas en los andes peruanos (Novoa, 1970); significando esto una disminución de su capacidad reproductiva durante ese tiempo. Sin embargo, existe un reporte donde el 70% de llamas con aproximadamente 1 año de edad alcanzaron la pubertad, contando con 56.5 kg como peso promedio grupal (Chiri *et al.*, 2001). Debido a ello, se extrapoló y comprobó que la importancia del peso de la hembra en época de monta afecta a su vez a la tasa de concepción y mantenimiento de la preñez (Sumar, 1999).

### **2.2.2. Comportamiento sexual de la hembra y conducta de monta**

Las hembras vacías no tienen un ciclo estral como tal, pero suelen mostrar un periodo de receptividad prolongado (England *et al.*, 1969) asociado, casi siempre, a la presencia de un folículo dominante y la ausencia de cuerpo lúteo o niveles bajos de progesterona en el plasma sanguíneo (Adams *et al.*, 1990).

Monitorear mediante citología los cambios en los genitales externos o incluso la vagina, no es un buen indicador de receptividad sexual; debido a que diferencia de otras especies, en los camélidos sudamericanos no se ha encontrado una correlación entre la presencia de células parabasales, intermedias y superficiales en el epitelio vaginal con respecto al estado folicular determinado por los niveles de estradiol sérico o ultrasonografía. Por otro lado, el edema de los labios vulvares suele pasar desapercibido, no siendo fiable tampoco para determinar receptividad sexual frente al macho (Ferrer *et al.*, 1999).

La receptividad sexual en la hembra camélida se presenta con la adopción de la posición de monta, en decúbito ventral, pese a que a veces existe un momento de persecución por parte del macho; otras hembras pueden acercarse a una pareja en cópula o montar a otra hembra realizando los mismos movimientos pélvicos que el

macho (San Martín *et al.*, 1968; Fernández-Baca *et al.*, 1970). Esto difiere a una hembra que no está receptiva, la cual escupe, pateo y escapa en presencia del macho (Sumar, 1988; Adams *et al.*, 1989; Fernández-Baca, 1993; Pollard *et al.*, 1994).

Pese a lo mencionado anteriormente, la conducta de receptividad sexual no es del todo confiable, puesto a que no siempre está asociada con la presencia de un folículo dominante; ya que un macho dominante puede obligar a hembras no receptivas a adoptar la posición de copula, ayudándose de su mayor masa corporal al ejercer presión al saltar sobre ellas para realizar la monta (Bravo, 1994). De otro lado, las hembras durante sus primeros empadres pueden a veces mostrarse ariscas frente al macho, pero en menor medida con respecto a otra hembra con varios empadres (Vaughan, 2001).

La conducta de monta puede dividirse en dos fases: de cortejo y de cópula. La primera fase, cuya longitud de tiempo está determinada por la cantidad de libido y experiencia del macho, puede llegar a durar hasta 10 minutos, y pasará a la siguiente fase si la hembra está receptiva sexualmente (England *et al.*, 1971). Sin embargo, el tiempo hasta que la hembra adopte la posición de monta no es un indicador de los niveles de estradiol en plasma sanguíneo ni del tamaño de los folículos ováricos (Bravo *et al.*, 1991).

La fase de copulación cuenta con una duración promedio de 20 a 25 minutos; sin embargo, existen distintos reportes que señalan una variación de entre 5 a 65 minutos (Sumar, 1985, England *et al.*, 1971; Fernández-Baca, 1993); la extensión de esta fase puede deberse directamente al macho o a la intromisión por parte de otros animales (England *et al.*, 1971). Durante esta fase, la hembra puede cambiar de posición y echarse de lado; mientras que el macho ejerce presión sobre la hembra, con sus codos encima apretando los hombros de la hembra y con sus metatarsos a nivel del suelo, lateralmente a los de la hembra, no le permite pararse (Novoa, 1970).

La monta es acompañada por movimientos de cadera, de tal manera que le permita al macho penetrar con su pene la cervix de la hembra y depositar su semen entre ambos cuernos uterinos a través de varias eyaculaciones (Bravo, 1994); dichas

penetraciones generarán edema, hiperemia e inflamación del endometrio uterino (Velasquez *et al.*, 1999).

Pese a lo mencionado, no existe relación alguna entre el tiempo de copulación y la tasa de ovulación (Fernández-Baca *et al.*, 1970). Esto se demostró cuando alpacas hembras que fueron montadas tan solo por 5 minutos en comparación con otras que tuvieron una monta sin interrupciones, no presentaron diferencias en sus tasas de ovulación; lo cual sugiere que existen machos con un mayor líbido que montan menos tiempo (Pollard *et al.*, 1994). Sin embargo, según lo reportado por Knight *et al.* (1992) la duración de la monta de alpacas que lograron preñar y las que no es de  $15.6 \pm 2.0$  minutos y  $14.33 \pm 6.4$  minutos, respectivamente; no encontrándose diferencia significativa.

### **2.2.3. Estacionalidad reproductiva**

En general, las llamas y alpacas que se encuentran en su hábitat natural en las alturas del Sur Peruano inician su actividad reproductiva desde diciembre hasta marzo, debido a que son los meses más cálidos y lluviosos como para generar abundantes pasturas verdes. De manera similar sucede en las comunidades campesinas que mantienen juntos a sus animales todo el tiempo sin hacer distinción en su género (San Martín *et al.*, 1968; Fernández-Baca, 1993).

Con respecto a los establecimientos que mantienen a los machos separados de las hembras, estos suelen manejar por conveniencia los mismos meses como época de reproducción de los animales; sin embargo, esta separación de los animales permite que la conducta sexual del macho no se vea inhibida, y por lo tanto son activos sexualmente todo el tiempo (Sumar, 1985); generando así que los nacimientos puedan no solo de forma estacional (San Martín *et al.*, 1968). Aun así, no se sabe cuál es el factor responsable del efecto inhibitorio en el macho, el cual se puede ver atribuido a los cambios de temperatura, humedad, luz, suplementos alimenticios, estímulos visuales u olfatorios; siendo el más importante el manejo y el tipo de crianza. Pese a todo esto, debemos tener en cuenta que la conducta sexual, tasa de ovulación, fertilización y sobrevivencia embrionaria es indistinta a lo largo del año, tanto en los

meses establecidos para época de reproducción como en los que no (Fernández-Baca *et al.*, 1972).

#### **2.2.4. Mecanismo neuroendocrino en la foliculogénesis**

Similar a otros mamíferos, la GnRH, la cual es secretada de manera pulsátil a nivel del sistema hipotalámico-hipofisial, cumple la función de estimular la liberación de gonadotropinas a nivel sistémico. A partir de ello, a nivel de la glándula pituitaria o hipófisis será promovida la liberación de la Hormona Folículo Estimulante (FSH) y la Hormona Luteinizante (LH), los cuales poseen un gran efecto durante el desarrollo folicular. Pese a lo anteriormente mencionado, el ovario secreta ciertas sustancias como estradiol, inhibina y progesterona, a manera de reguladores de FSH y LH (Komatsu y Masubuchi, 2016).

De acuerdo a lo reportado por Webb *et al.* (2003), el desarrollo folicular puede dividirse en 2 etapas: la primera en que son independientes de la acción de las gonadotropinas tales como FSH y LH, y el crecimiento folicular depende de otros factores por lo que los folículos primordiales crecen hasta convertirse en folículos antrales. A partir de este estadio ingresan a una segunda etapa, donde se vuelven dependientes de gonadotropinas y pueden así alcanzar su estado pre-ovulatorio.

Los responsables para dar inicio a la emergencia de una nueva onda folicular, el crecimiento folicular y la selección del folículo dominante son los aumentos periódicos de la FSH y picos pulsátiles de la LH; esto ha sido demostrado a partir del uso de FSH de oveja o porcino (Aba *et al.*, 1999). Por otro lado, también se les atribuye a estas gonadotropinas el desarrollo final de los folículos antrales (Rosales-Torres *et al.*, 2012).

Por otra parte, el estímulo generado por la monta provocará un reflejo neuroendocrino, promoviendo así la liberación de GnRH, el cual estimulará la secreción pulsátil de LH, pero no se verá aumentada la de FSH, a nivel hipofisario (Bravo *et al.*, 1991).

Los cambios en los niveles de estradiol sérico suele reflejar la fase de crecimiento folicular en la que se encuentra la hembra; un ejemplo de esto es que los folículos emergentes producen estradiol aumentando los niveles de este durante la fase de crecimiento, el cual llega a su pico máximo justo al llegar a la fase estática y empezará a decaer si ese folículo dominante no llegó a ovular, cuando empieza la fase atresia folicular (Bravo *et al.*, 1990; Aba *et al.*, 1995; Vaughan, 2001; Chaves *et al.*, 2002).

El pico de LH genera el comienzo de un proceso de meiosis en el ovocito, destruyendo la cohesión entre las células del cúmulo y rompimiento de la pared folicular para así poder liberar el complejo cúmulo-ovocito (COC), empezando a declinar los niveles de estradiol sanguíneo a las 24 horas posterior a este evento (Bravo *et al.*, 1990; Vaughan, 2001).

A nivel del ovario, la producción de esteroides posee variaciones que van desde el máximo aumento de los niveles de LH y la ocurrencia de ovulación, por ejemplo, estos niveles se mantienen entre 11 a 12 pg/ml pasadas 18 horas post-cópula, empezando a declinar a las 22 horas y volviéndose considerablemente bajos a las 48 horas, siendo los niveles de 9 pg/ml y 6 pg/ml, respectivamente (Bravo *et al.*, 1990).

En lo que respecta a la selección del folículo dominante, se debe a la presencia de receptores en los folículos, los cuales les permitirán responder adecuadamente a la FSH y la LH (Adams, 1999). De igual manera, la liberación de estradiol e inhibina por parte de un folículo en desarrollo o crecimiento, actúa localmente estimulando la diferenciación a nivel de las células de la granulosa y como reguladores de la FSH, a través de la retroalimentación negativa para la secreción de FSH, promueve la maduración de un folículo en especial (Ginther, 2000).

Según lo reportado por Bravo *et al.* (1990), mientras el folículo dominante mantenga su tamaño de la fase de maduración, inhibirá el desarrollo folicular en llamas; esto seguirá hasta que este folículo dominante comience a atresiar, disminuyendo paulatinamente la producción de sustancias inhibitorias por parte de este, permitiendo así el aumento de la FSH; sin embargo, los folículos subordinados,

que acompañaban al folículo dominante en proceso de atresia, son incapaces de responder a este nuevo estímulo, debido a que ya habrían comenzado por atresarse también.

Aun no se ha establecido del todo el diámetro folicular en el cual ocurre la dependencia de la LH, y con ello el comienzo de la fase de dominancia folicular. En estudios previamente realizados, se ha reportado la presencia únicamente de un folículo con un diámetro mayor a 6 mm (Bravo *et al.*, 1990) o mayor a 7 mm; mientras que el diámetro máximo entre los folículos subordinados es de  $5.3 \pm 0.3$  mm (Adams *et al.*, 1990).

### **2.3. DINÁMICA FOLICULAR EN CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS**

#### **2.3.1. Dinámica folicular en ausencia de ovulación**

Tanto las llamas como alpacas hembras poseen un ciclo de crecimiento folicular irregular, manifestando prolongados periodos de estro interrumpidos por cortos periodos de anestro (England *et al.*, 1969; San Martin *et al.*, 1968); por ello se ha propuesto que existe una sobreposición de las ondas foliculares, lo cual mantiene la concentración de estradiol a nivel sanguíneo lo suficiente como para generar receptividad sexual en las hembras (Brown, 2000).

Esto va correlacionado con el aumento y bajada de los niveles de estrógeno sérico, lo cual se refleja en las consecutivas ondas de maduración y atresia de los folículos ováricos (Sumar, 1996). Por ello no se considera que los camélidos tengan un ciclo estral como tal, más bien se usan los términos de fase folicular y luteal para caracterizar su ciclo sexual (Ratto, 2005).

A su vez se sabe que hay una correlación positiva entre los niveles de estradiol sérico y el tamaño del folículo dominante tanto en alpacas (Bravo *et al.*, 1990; Aba, 1995; Vaughan, 2001) como en llamas (Bravo, 1994; Aba *et al.*, 1995; Chaves *et al.*, 2002); siendo su pico más alto entre 10 a 13 días y 8 días después del comienzo de la emergencia de una nueva onda folicular, en llamas (Chaves *et al.*, 2002) y alpacas

(Vaughan, 2001), respectivamente; coincidiendo con el máximo diámetro del folículo dominante.

Los camélidos sudamericanos presentan un patrón de onda folicular similar a los demás animales, entre dichos patrones están: el reclutamiento, la selección y el dominio durante el desarrollo de ondas foliculares ováricas (Adams *et al.*, 1999). Estudios realizados mediante ultrasonografía rectal reportan tasas de crecimiento folicular desde 0.5-0.8 mm/día (Adams *et al.*, 1989, 1990) a 0.9 mm/día (Chaves *et al.*, 2002) y 0.4 mm/día (Vaughan *et al.*, 2004), en llamas y alpacas, respectivamente. Estas tasas de crecimiento pueden verse afectadas, por ejemplo, en el caso de hembras que han sido montadas, si estas poseían un folículo dominante entre 7 a 9 mm o entre 10 a 12 mm, contaban con una tasa de crecimiento folicular que varía entre 0.6 a 1 mm/día y -0.3 a 0.2 mm/día, respectivamente (Vaughan y Tibary, 2006).

De esta manera, la emergencia de una nueva onda folicular, la cual precedió a un folículo dominante, al no haber recibido estímulo alguno habrá regresionado, a partir de la presencia de folículos antrales entre 2 a 3 mm de diámetro; pasarán a la fase de reclutamiento los folículos que alcancen 4 a 5 mm de diámetro (Adams *et al.*, 1989). Dentro de este grupo de folículos, será 1 o 2 los cuales pasarán a la fase de selección y solo uno de ellos continuará su crecimiento hasta obtener entre 7 a 12 mm de diámetro siendo considerado pre-ovulatorio o dominante, siendo los de mayor a 12 mm considerados como quísticos en el caso de llamas (Bravo *et al.*, 1992), esto no concuerda con lo reportado según Aller (1996), donde folículos de 25 mm contaban con una tasa de regresión normal.

Comúnmente para la ocurrencia de ovulación, el folículo dominante debe tener un diámetro mayor a 6 mm (Bravo *et al.*, 1991). Esto difiere a lo reportado por Bianchi *et al.* (2018), donde ocurrió ovulación al estimular con un análogo de GnRH a hembras con folículos de 5.5 mm de diámetro; esto puede ser debido a la tasa de crecimiento folicular ya anteriormente mencionada, alcanzando así el folículo el tamaño óptimo al momento de la ovulación.

La sumatoria total de folículos dominantes que se presenten en ambos ovarios es indistinto (San Martín *et al.*, 1968; Fernández-Baca *et al.*, 1970; Adams *et al.*,

1992; Bourke *et al.*, 1992); esto no significa que haya una alternancia entre ambos ovarios al momento de pasar de una onda folicular a la siguiente (Adams *et al.*, 1990; Bourke *et al.*, 1992; Vaughan *et al.*, 2004), sin tener en cuenta el 98% de probabilidades que existen de que el feto se ubique en el cuerno izquierdo (Fernández-Baca *et al.*, 1973).

De igual manera, el folículo dominante posee un efecto inhibitorio sobre los demás folículos subordinados o de la misma cohorte, deteniendo su crecimiento y atresiandolos (Ferrer *et al.*, 2002); podemos decir entonces que posee un efecto regulador en el número y diámetro de folículos presentes, dicho efecto se le podría atribuir a la secreción de inhibina por parte de este.

Existen tres estadios en lo que respecta al folículo dominante: crecimiento, maduración y regresión (Bravo *et al.*, 1990). Igualmente se evidenció que el tiempo requerido para el desarrollo de los folículos de 3 mm hasta los 8, 10, o 12 mm es de  $4.8 \pm 1.5$  días, la fase de madurez folicular (folículos, 8-12 mm) promedio  $5.0 \pm 1.6$  días y para la fase de regresión folicular en promedio  $4.0 \pm 1.1$  días (Bravo *et al.*, 1990). Mientras que la ovulación ocurre en promedio, dos días (con límite de uno a tres días) después de un solo apareamiento (Adams *et al.*, 1989, 1990). Contando con un promedio de 13.8 días que durarían una onda folicular en llamas (Bravo *et al.*, 1990); mientras que Chaves *et al.* (2002) reportó un 22.6 días en promedio, con un intervalo de  $9.2 \pm 2.8$  días para la fase de crecimiento folicular, de  $5.2 \pm 1.4$  días para la fase estática y de  $8.2 \pm 2.2$  días para la fase de regresión.

Similar a otras especies, la FSH juega un papel importante en la fase de reclutamiento, mientras que la LH, en la dominancia. En llamas, el diámetro del folículo dominante puede estar parcialmente asociado a la secreción pulsátil de LH (Ratto, 2005).

Progesterona secretada por el cuerpo lúteo resultante de monta con un macho vasectomizado y en llamas preñadas, resulta en una reducción del diámetro del folículo dominante de la onda anovulatorio siguiente (Adams *et al.*, 1990; Ratto, 2005). Este efecto de la progesterona promoviendo el inadecuado desenvolvimiento



de las ondas foliculares se explica en lo reportado por Adams (2001), en donde las alpacas preñadas poseyeron un folículo dominante con un menor diámetro con respecto a las que no llegaron a preñar y a las que no llegaron a ovular, siendo sus diámetros de  $9.7 \pm 0.2$  mm,  $11.5 \pm 0.2$  mm y  $12.1 \pm 0.4$  mm, respectivamente.

Pese a ello, la regresión del folículo dominante en hembras que no llegan a ovular va acompañada de niveles de progesterona casi indetectables, teniendo como un rol importante a los factores intraovaricos (Ratto, 2005).

Se ha reportado que el intervalo en el que surgen folículos dominantes sucesivos es de  $19.8 \pm 0.7$  días en llamas (Adams *et al.*, 1990); reporte que difiere a los de  $11.1 \pm 1.9$  días, señalado por Bravo *et al.* (1990), pero concuerda mejor con el promedio reportado por Chaves *et al.* (2002) de  $18.0 \pm 2.5$  días, esto debido posiblemente a diferencias en la medición de los folículos consecutivos de 8 mm o los diferentes grados de dominancia folicular relacionados al diámetro máximo alcanzado por el folículo dominante (Ratto, 2005).

Otros estudios registraron que el crecimiento folicular, durante las fases de crecimiento y estática, en el ovario contralateral se mantiene siempre menor a 4 mm; y durante la fase de regresión, cuenta con un diámetro medio del nuevo folículo de  $4.4 \pm 0.1$  mm (Bianchi *et al.*, 2010).

El intervalo entre ondas foliculares o número de días hasta la aparición de folículos  $\geq 7$  mm posee un promedio de 20 y 12 a 22 días, en llamas (Adams *et al.*, 1990) y alpacas (Vaughan *et al.*, 2004), respectivamente. Sin embargo, se puede relacionar positivamente el diámetro de un folículo dominante no ovulatorio con su tiempo de vida, alterando así el intervalo entre ondas foliculares (Vaughan *et al.*, 2004); estos cambios pueden asociarse al número de animales en cada experimento, alteraciones climáticas o diferencias por la localización geográfica (Vaughan *et al.*, 2004). A su vez, se debe tener en cuenta que los estadios del folículo dominante, hasta conseguir su diámetro máximo o al momento de empezar a regresionar, puede alterar en el cálculo del intervalo entre ondas (Ratto, 2005).

Acorde a estudios realizados por Adams *et al.* (1990), para referirse a la actividad de las ondas foliculares se suele agrupar a las hembras en 3 condiciones fisiológicas: las que no ovularon (sin estímulo), las que ovularon, pero no están preñadas y las que sí llegaron a preñarse.

Otro factor que puede afectar la duración del intervalo entre ondas y el diámetro máximo del folículo dominante, reduciendo ambos, es el periodo de lactación (Adams *et al.*, 1990; Vaughan *et al.*, 2004).

### **2.3.2. Ovulación inducida por monta natural o uso de plasma seminal**

Las hembras camélidas ovulan como resultado de una respuesta neuro-endocrina a la copula (England *et al.*, 1969), sin embargo, se trata de cumplir con el estándar de tiempo de monta, 15 minutos en promedio, debido a que este estímulo puede generar ovulación, pero no ser suficiente para depositar el semen adecuadamente en el tracto reproductivo femenino (Fernández-Baca *et al.*, 1970). Pese a ello, la capacidad de ovulación del folículo dominante se verá afectada por su diámetro y el estado folicular en el que este se encuentre (Adams *et al.*, 1989; Chaves *et al.*, 2002); a su vez, esta capacidad de ovulación no está relacionada a la fertilidad del ovocito que este contiene. Los folículos en la fase de crecimiento y estática temprana son más comunes a contener ovocitos fértiles (Ratto *et al.*, 2003).

San Martín *et al.* (1968) describe que la ovulación en alpacas ocurre 26 horas post-cópula, mientras que en llamas ocurre entre las 29 a 30 horas (Ratto *et al.*, 2006); con respecto al tamaño del folículo dominante durante la monta de la hembra, este no afectará la duración de la ovulación, pero dicho periodo sí se verá afectado por la fase en que el folículo  $\geq 7$  mm se encuentre (Adams *et al.*, 1990). Para que dicha ovulación llegue a perpetuarse son diferentes los estímulos que influenciarán, desde los sonidos guturales emitidos por el macho, la constante fricción y edema que se genera por la penetración intracornual (Fernández-Baca *et al.*, 1970; Bravo, 1994) y, sobre todo debido a que el plasma seminal del macho presenta el Factor Inductor de la Ovulación (FIO) (Chen *et al.*, 1985; Adams, 2005).

A minutos de iniciada la monta, esta desencadena una serie de reflejos neuroendocrinos que llegan hasta el hipotálamo teniendo, por ejemplo, el inicio del incremento de la LH en plasma sanguíneo suele ocurrir entre los 15 a 40 minutos post-estímulo tanto en llamas como en alpacas (Bravo *et al.*, 1991) y según lo descrito por Bravo *et al.* (1988) dicha concentración elevada se puede mantener hasta por 5 horas.

Se reportó luego que, tanto en alpacas como en llamas, ocurría ovulación en >95% de las hembras que fueron montadas y con intromisión del pene, en comparación al <14% en las cuales no se permitió la intromisión peneana (Fernández-Baca *et al.*, 1970). Siendo resultados apoyo para pensar en que el estímulo físico genital durante la cópula es el desencadenador primario para inducir la ovulación en estas especies de ovulación inducida (Adams *et al.*, 2016).

También se ha reportado, en un porcentaje del 5%, animales que ovulan “espontáneamente”, esto ha sido atribuido a estímulos auditivos, olfatorios o visuales sin ser la hembra montada por el macho, pero en comparación a lo anteriormente comentado, estos métodos son menos efectivo para inducir ovulación (Fernández-Baca *et al.*, 1970; Bravo *et al.*, 1989). De igual manera puede contribuir el estrés del manejo, la monta entre hembras y la manipulación del tracto reproductivo durante la ecografía o ultrasonografía (Bourke *et al.*, 1992; Sumar, 1996); aunque con respecto a este último, según Chaves *et al.* (2002), no hay reportes de ovulación espontanea durante la realización de ecografía transrectal.

Según lo reportado por Bravo *et al.* (1992), constantes periodos de copula, entre 6 a 24 horas después de la primera monta, no incrementa considerablemente los niveles de LH; esto puede deberse a un periodo refractario a nivel de la glándula pituitaria, por una depleción de LH, o hipotálamo, por la regulación negativa generada por la GnRH.

En caso el folículo dominante se encuentre en estadio de regresión, este no llegará a ovular sino más bien empezará a luteinizarse, retrasando así en aproximadamente 5 días el desarrollo de una nueva onda folicular (Bravo *et al.*, 1991).

El plasma seminal, el cual es secretado por las glándulas accesorias del macho y los testículos, se pensaba que solo era vehículo para los espermatozoides. Pese a ello Ratto (2005) al igual que otros investigadores tenían la presunción de que las proteínas, factores de crecimiento, hormonas y citoquinas presentes en el plasma seminal regularían funciones importantes en el tracto reproductivo del macho.

Chen *et al.* (1985) reportó la ocurrencia de ovulación inducida en camellos Bactrianos por deposición de semen intravaginal sin haber contacto físico con el macho, concluyendo así que debe haber algún factor en el semen, aparte del estímulo durante la cópula. A su vez, en otro estudio (citado por Sumar, 1994) reveló que, de igual manera, ocurría ovulación con la deposición de semen intravaginal en alpacas. Posteriormente, Ratto *et al.* (2005) plantearía que la absorción a nivel uterino de dicho factor en el semen podría verse facilitado por la inflamación y lesión endometrial que se genera durante la intromisión peneana.

Estudios posteriores reportaron que, a diferencia de bovinos, ovinos y otros rumiantes, la ovulación en camélidos sudamericanos ocurre por la presencia de la proteína FIO en el plasma seminal, dicha proteína caracterizada a su vez por su potente acción luteotrópica (Adams *et al.*, 2005), ha sido descrito como una proteína similar al Factor de Crecimiento Neural  $\beta$  ( $\beta$ -NGF) (Kershaw-Young *et al.*, 2012; Ratto *et al.*, 2012). Por lo cual, distintos autores lo toman como el sistema FIO/NGF. De la misma manera, existen reportes previos que demuestran que este FIO también está presente en especies de ovulación espontánea pero no en la misma concentración; siendo así que al aplicar plasma seminal de llama y alpaca a hembras camélicas, la tasa de ovulación fue del 100% a comparación del 25% obtenido con la aplicación de plasma seminal de toro, vía IM (López *et al.*, 2006). A su vez, esta función del sistema FIO/NGF en el tracto reproductivo femenino ha sido documentada en muchas especies incluyendo tanto los ovuladores inducidos como los espontáneos (Adams *et al.*, 2016).

Se demostró que, a partir de los cultivos primarios de células pituitarias de rata, el plasma seminal de alpaca estimula la secreción de LH a nivel hipofisiario (Paolicchi *et al.*, 1999), esto podría ser atribuido a una previa estimulación en las

neuronas de GnRH hipotalámicas (Silva *et al.*, 2011); sugiriendo que en dicho plasma seminal se encontraba presente uno o varios factores con una actividad similar a la de la GnRH. Guardando concordancia con lo reportado por Mamani *et al.* (2013), encontrando similares porcentajes de ovulación en alpacas y llamas utilizando GnRH y plasma seminal. Sin embargo, según otros estudios, su efecto ovulatorio no estaría ligado a receptores de GnRH debido a que, en un cultivo celular de glándulas pituitarias de ratas, al adicionar un anticuerpo anti-GnRH no hubo diferencia en la secreción de LH (Paolicchi *et al.*, 1999) y además es en estas células gonadotrópicas donde se ha identificado receptores TrkA de FIO/NGF (Patterson y Childs, 1994).

Según lo reportado por Silva *et al.* (2012), la inducción de LH por parte del FIO/NGF se ve suprimida en llamas ovariectomizadas, pero se restaura de manera parcial al aplicar estradiol exógeno, indicando que el FIO/NGF necesita la acción del estradiol a nivel hipotalámico. Puesto a que los principales sitios de acción del estradiol en el hipotálamo son las neuronas kisspetin, El-Allali *et al.* (2017) propone que el  $\beta$ -NGF induciría el pico pre-ovulatorio de LH principalmente por medio de neuronas kisspeptin hipotalámicas.

### **2.3.3. Ovulación inducida por el uso de métodos hormonales**

En ovuladores inducidos, al igual que en los espontáneos, la Hormona liberadora de Gonadotropina (GnRH) es el regulador central hipotalámico de los picos de LH. La GnRH es producida por neuronas hipotalámicas a partir de un polipéptido precursor por medio de un proceso enzimático y empaquetado en gránulos de almacenamiento que es transportado por los axones neuronales hacia la eminencia media (Fink, 1988).

Mientras que la principal función del pico pulsátil de LH es la de producir la ovulación o liberar al ovocito contenido en el folículo dominante, mediante la ruptura de este (Fernández-Baca *et al.*, 1970).

La hormona gonadotropina coriónica humana (hCG), puede a su vez inducir ovulación en los camélidos sudamericanos, ya que posee una acción similar a la LH (Fernández Baca *et al.*, 1970).

Asimismo, en otro estudio, la ovulación usando GnRH fue detectada 28 horas post-tratamiento en llamas (Bourke *et al.*, 1992).

## **2.4. CUERPO LÚTEO EN CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS**

Posteriormente a que se produzca la ovulación, las células de dicho folículo empezarán a luteinizarse y sintetizar progesterona, convirtiéndose así en un cuerpo lúteo (Novoa y Leyva, 1996), el cual permanecerá durante toda la preñez, en el caso haya habido fecundación. Esta estructura es la principal fuente de mantenimiento de gestación en alpacas y llamas (Sumar, 1996). Por ello, si algo llega a afectar al desarrollo y función del cuerpo lúteo en cualquier estadio de la gestación, influenciará en la tasa de preñez, entre otros (Silva *et al.*, 2014).

Se reportó que, en alpacas, el cuerpo lúteo puede alcanzar entre el día 8 a 9 post-cópula un diámetro máximo de 14 mm y regresa al día 8 al 12; a su vez, la concentración máxima de progesterona va desde 3.6 - 6.3 ng/ml entre los días 7 y 8 post-cópula (Bravo *et al.*, 1995; Aba *et al.*, 1995). De manera similar Adams *et al.* (1991) reportó que, en llamas el máximo diámetro del cuerpo lúteo y concentración de prostaglandina en la sangre fue detectado al día 8 post-cópula. Pese a esto, que una hembra cuente con niveles de progesterona de al menos 2.1 ng/ml puede ser tomado en cuenta para suponer la presencia de un cuerpo lúteo.

Según lo reportado por Sumar *et al.* (1988), algunos camélidos pueden tener fases luteales cortas, esto se puede ver atribuido a que probablemente esos animales posean un folículo dominante en fase de regresión y al momento de inducir la ovulación en este, pese al pico pulsátil de LH no llegue a ovular (Bravo *et al.*, 1991). Dichos folículos deben poseer la capacidad de luteinizarse a partir de sus células de

la granulosa, pero debieron perder la capacidad de sintetizar otros factores importantes (Pollard *et al.*, 1994).

En caso no llegara a fecundarse el ovocito, debido a que los folículos dominantes de las siguientes ondas se mantienen produciendo estradiol, lo cual promoverá la presencia de más receptores de oxitocina a nivel del útero y así aumentará la secreción de PGF2a a ese nivel, generando el comienzo de la luteólisis (Leyva y García, 1999); esto se termina volviendo una cascada de retroalimentación positiva, con el fin de asegurar la desaparición del cuerpo lúteo. Estas hembras que no llegaron a preñar, se podrán volver a servir entre los 12 a 14 días después de monta fallida (Adams *et al.*, 1991).

Con respecto a las hembras que logren quedar preñadas, sus niveles de progesterona suelen disminuir de manera pasajera entre los días 13 a 18 post-cópula (Fernández-Baca *et al.*, 1970; Adams *et al.*, 1991), esto debido al aumento entre los días 9 al 12 post-monta de los niveles de PGF2a. Este último si se aplica de manera exógena a partir del cuarto día de la fase luteal, afectará la vida media del cuerpo lúteo (Leyva y García, 1999).

En algunos casos, días cercanos después de la ovulación las hembras pueden seguir mostrándose receptivas al macho, esto es asociado a los bajos o insuficientes niveles de progesterona (Leyva y García, 1999). Sin embargo, según lo reportado por Fernández-Baca (1971) para el día 5 pasada la ovulación, ya existe un cuerpo lúteo funcional el cual es capaz de mantener el efecto inhibitorio a nivel del eje hipotálamo-hipófisis. Esto sumado a la relación entre dicho cuerpo lúteo funcional y la receptividad sexual, según los distintos reportes nos dan a entender que un rechazo genuino hacia el macho es más atribuible a la presencia del cuerpo lúteo que a folículos pequeños o un folículo luteinizado (Fernández-Baca *et al.*, 1970; Fowler y Pollard *et al.*, 1994; Bravo, 1998).

Pese a la presencia del cuerpo lúteo funcional, las ondas foliculares no desaparecen ni suele alterarse la duración del intervalo entre ondas; sin embargo, debido a los altos niveles de progesterona el crecimiento folicular es menor, por ello

el diámetro máximo que llega a alcanzar el folículo dominante y el número de folículos subordinados, se ven disminuidos (Adams *et al.*, 1990).

A manera de poder evaluar la capacidad secretoria del cuerpo lúteo, en paralelo al tamaño de este, se pueden analizar los niveles de progesterona en sangre periférica y niveles urinarios de glucuronato de pregnandirol (England *et al.*, 1969; Fernández-Baca *et al.*, 1970; Bravo *et al.*, 1991; Bravo, 1994).

## **2.5. SINCRONIZACIÓN DE LA ONDA FOLICULAR**

Los protocolos de sincronización son capaces de inducir una nueva emergencia de la onda folicular sin importar la fase del ciclo en la cual se encuentre el animal (Ratto, 2005). Por ello, los diferentes tratamientos dependerán de que tan buenos sean en inducir el desarrollo de un nuevo folículo mayor o igual a 7 mm con la capacidad de ovular (Skidmore *et al.*, 2009). Varios de estos tratamientos para la sincronización folicular establecidos en camélidos sudamericanos han sido adaptados a partir de los usados en otras especies, pero han tenido resultados variables (Tibary, 2018).

El tratamiento a usar como inductor del desarrollo de una nueva onda folicular, independientemente del estado folicular y lúteo en el momento del tratamiento, tendrá un gran efecto sobre la sincronización ovárica (Ratto *et al.*, 2003). Dichos tratamientos están basados en remover el efecto de supresión que tiene el folículo dominante, sobre los demás folículos, por medio de la ovulación del mismo o su atresia, resultando en el reclutamiento de una nueva onda folicular (Ratto, 2005). No se debe hacer inferencias acerca de la sincronización folicular en base a la respuesta ovulatoria, según lo señalado por Ratto *et al.* (2003) al encontrar igual tasa de ovulación tanto para llamas sincronizadas como las que no fueron sincronizadas.

Según Miragaya *et al.* (2006) los objetivos de realizar la sincronización de la dinámica folicular se pueden ver resumidos en: predecir la presencia de un folículo pre-ovulatorio para programar una monta natural o inseminación artificial, comenzar



tratamientos de superestimulación ovárica al comienzo de una onda folicular y sincronizar para un programa de transferencia embrionaria a las hembras donadoras y receptoras.

Los diferentes tratamientos que nos permiten la manipulación de la actividad folicular para la sincronización, y tal vez posterior superestimulación ovárica, han venido desarrollándose ampliamente en los últimos años, esto gracias a los estudios realizados para entender mejor los patrones de las ondas foliculares en los camélidos sudamericanos (Vaughan y Tibary, 2006).

### **2.5.1. Métodos hormonales**

Se han realizado estudios con diferentes hormonas en camélidos para inducir su ovulación en hembras superestimuladas y normales, dentro de los cuales tenemos: protocolos con hCG (Bourke *et al.*, 1992), protocolos con GnRH (Bravo *et al.*, 1992; Huanca *et al.*, 2001), protocolos con LH (Huanca *et al.*, 2001). Aunque estos estudios no fueron diseñados originalmente para evaluar en su totalidad el desarrollo de la onda folicular post-tratamiento (Ratto, 2005).

Los tratamientos con progesterona que se han probado en camélidos incluyen inyecciones diarias (50-100 mg), dispositivos o esponjas intravaginales (CIDR o PRID) e implantes subcutáneos, como norgestomet (Tibary, 2018). La aplicación de progesterona suprime el desarrollo folicular y finalizado el periodo de aplicación aumenta el número de folículos en la emergencia de una nueva onda folicular (Santiani *et al.* 2002).

El uso de protocolos basados solamente en prostaglandina no tiene sustento, debido a que los camélidos son especies de ovulación inducida y no cuenta con una fase luteal como tal (Adams *et al.*, 1990). De igual manera, en otros experimentos han adaptado los protocolos basados en PGF<sub>2</sub>/E<sub>2</sub> usados en vacunos y ovejas para sincronizar llamas y vicuñas (Bourke *et al.*, 1992; Aba *et al.*, 1999; Chaves *et al.*, 2002).

Existen discrepancias entre los autores con respecto a los intervalos a la emergencia de una nueva onda folicular, según Ratto *et al.* (2003) aplicando LH obtuvo  $2.1 \pm 0.3$  días; mientras que, Andrade (2007) entre el uso de GnRH y LH, reportó un intervalo de  $4.6 \pm 1.2$  días y  $4.0 \pm 1.2$  días, respectivamente.

La duración del intervalo a la emergencia de una nueva onda folicular desde la aplicación de GnRH, dependerá del estado folicular en el que se encuentre el folículo dominante. Según lo reportado por Bianchi *et al.* (2018), en el caso de las llamas hembras con folículos dominantes en estado de crecimiento o maduración y posteriormente sincronizadas con GnRH, 3 días después de este estímulo se dio la emergencia de una nueva onda folicular; lo cual es similar a la respuesta en camellos (Nikjou *et al.*, 2008). Mientras que las que tenían un folículo dominante en estado de regresión y que fueron igualmente sincronizadas, desarrollaron la emergencia de la nueva onda folicular entre 1 a 2 días post-estímulo (Bianchi *et al.*, 2018), esto podría atribuirse a la emergencia de ondas sucesivas que encubren los distintos estadios foliculares, al igual que pasa en las hembras que no ovulan (Cavilla *et al.*, 2013).

Por otra parte, según lo reportado por Manjunatha *et al.* (2014), en camellos la emergencia de una nueva onda folicular se da a las  $70.6 \pm 1.4$  horas post-aplicación de GnRH como inductor de ovulación.

### **2.5.2. Métodos no hormonales**

De manera similar a los métodos hormonales, basados en la desaparición del efecto supresor del folículo dominante, ya sea por inducir su ovulación (GnRH o LH) o atresia (PGF2/E2); en el caso de la ablación folicular ovárica, será a través de la aspiración transvaginal del contenido de dicho folículo dominante (Ratto, 2005), llegando a hacerlo desaparecer.

Según lo encontrado por Ratto *et al.* (2003), el intervalo de tiempo desde la realización de la ablación folicular hasta la emergencia de una nueva onda es de  $2.3 \pm 0.3$  días, lo cual no tiene diferencia significativa con el uso de LH, según lo reportado por el mismo autor. La desventaja de este método es que es invasivo, puede

producir cuerpos hemorrágicos y es difícil de aplicar a las condiciones del campo (Miragaya *et al.*, 2005).

Por otro lado, en estudios realizados por Bogle *et al.* (2011) para determinar el papel funcional de OIF/NGF en ovuladores espontáneos utilizando un modelo de ratón pre-puberal superestimulado, el plasma seminal de llama no sólo indujo a más ratones a ovular, sino más ovulaciones por ratón que en controles negativos, y el efecto fue casi tan potente como los controles positivos dado por hCG.

Contrariamente al efecto observado en ratones, FIO / NGF no indujo la ovulación en novillas; pero, aceleró tanto la regresión del folículo dominante existente como la emergencia de una nueva onda folicular, lo que sugiere un papel en el control de la dinámica de las ondas foliculares a través de un efecto supresor sobre el folículo dominante (Tanco *et al.*, 2012).

Si bien existen varios reportes en los cuales usan el plasma seminal de los camélidos sudamericanos como inductor de ovulación, no se han estudiado aún sus posteriores efectos sobre la dinámica folicular de las distintas especies.

## **2.6. ULTRASONOGRAFÍA EN REPRODUCCIÓN**

La ultrasonografía ha servido como un método de diagnóstico y de investigación. Siendo usado en el área de la reproducción para el estudio de: la dinámica folicular, ovulación, cuerpo lúteo, monitoreo uterino y desarrollo fetal. (Komatsu y Masubuchi, 2016).

Por otro lado, la ultrasonografía transrectal ha sido de gran ayuda para realizar las mediciones de los folículos durante su fase de crecimiento y así poder observar gran parte del desarrollo folicular; sin embargo, este método no nos permite monitorear del todo bien a los folículos que no son dependientes de gonadotropinas

debido a que estos crecerán y cambiarán de posición, en los diferentes mamíferos. (Komatsu y Masubuchi, 2016).

Según lo reportado por Adams *et al.* (1991), en el caso del cuerpo lúteo, estos poseen una ecogenicidad media en sus bordes y suelen tener su parte central ligeramente más ecogénica; sin embargo, algunos cuerpos lúteos pueden ser policavitarios, presentando cavidades anecogénicas de entre 3 a 8 mm de diámetro; en general, se puede determinar su presencia vía ecografía transrectal a partir del día 4 post-ovulación.

Actualmente, realizar el monitoreo del estado reproductivo de la hembra camélida mediante ultrasonografía transrectal es bastante común, debido a su practicidad para evaluar los diferentes factores que afectan a la dinámica folicular, como es el caso durante la época de empadre; llegando así a reemplazar el uso de algunos complejos análisis hormonales (Tibary, 2018).

Debido a que la ultrasonografía posee dificultad para mostrarnos los folículos con un diámetro menor a 1 mm, tales como folículos primordiales, primarios y secundarios; algunos autores han desarrollado otro método. A partir de cultivo de tejido ovárico proveniente de ratones, se puede observar el desarrollo folicular desde los folículos primordiales hasta que alcanzan el estado de folículo antral. Sin embargo, aún falta mejorar los métodos anteriormente mencionados para observar el desarrollo de la onda folicular ovárica (Komatsu y Masubuchi, 2016).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. LUGAR DE ESTUDIO

El estudio se realizó en el mes de enero del 2018, en la sede del “Centro de Investigación y Producción La Raya – Puno”, perteneciente a la Universidad Nacional del Altiplano - Puno, ubicada a 4200 a 5500 msnm, enmarcados entre los 14°29’46’’ de latitud sur y 70°56’25.4’’ longitud oeste, en el distrito de Santa Rosa, provincia de Melgar, en el departamento de Puno, con una zona agroecológica Puna húmeda.

#### 3.2. TAMAÑO DE LA MUESTRA

Se estimó el número de animales a usar por medio de la fórmula para diferencia de medias:

$$n = (Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 \cdot \frac{2 \cdot S^2}{\delta^2}$$

Dónde:

- $Z_{\alpha}$  = valor de Z relacionado con  $\alpha = 0.05$ , que tabulado es 1.96
- $Z_{\beta}$  = valor de z relacionado con un  $\beta = 0.20$  (poder de 80%), que es de 0.84
- $S$  = desviación estándar para el intervalo a la emergencia de folículos  $\geq 3$  mm según investigaciones anteriores, que es de 1.2 días (según Andrade, 2007)
- $\delta$  = mínimo esperado para el intervalo a la emergencia de folículos  $\geq 3$  mm con la aplicación de plasma seminal, que es de 2 días.

- $n$  = número de animales por grupo, que resulta 6.

### **3.3. UNIDADES EXPERIMENTALES**

Se trabajó con 24 llamas de entre 6 a 8 años, sin cría al pie y que registraban historia de por lo menos un parto anterior sin antecedentes de problemas reproductivos, las cuales fueron seleccionadas previamente mediante una evaluación ecográfica, presentando al inicio del estudio un folículo pre-ovulatorio, con un rango entre 7 a 17 mm, dichos animales disponían de alimento basado en pastura natural.

### **3.4. OBTENCIÓN DEL PLASMA SEMINAL**

El plasma seminal (PS) fue obtenido en base a la colección de semen de 4 alpacas machos de 4 a 7 años, mediante una vagina artificial. Los animales pertenecen al “Laboratorio de Reproducción Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, sección de Biotecnología Reproductiva” (12°04’ latitud Sur, 76°59’ longitud Oeste y a 191 msnm). El semen fue colectado dos meses previos al comienzo de la parte experimental, con una frecuencia de dos a tres veces por semana; para ello se adaptó una vagina artificial de ovinos. El procesamiento de las muestras obtenidas se realizó de acuerdo a lo anteriormente reportado por Adams *et al.* (2005). El semen colectado fue diluido con PBS en proporción 1:1 y sometido a un procedimiento mecánico de pasaje por una aguja N° 21 y jeringas de 10 ml con el propósito de romper la viscosidad seminal. Posteriormente fue centrifugado a 2500 rpm durante 20 minutos, volviéndose a repetir este paso 2 veces más con el sobrenadante que resultó en cada centrifugado. Finalmente, las muestras obtenidas se colocaron en tubos falcón de 15 ml, añadiéndole Sulfato de Gentamicina a razón de 10 mg por cada 10 ml de solución, formando un pool del plasma de la totalidad de los machos y siendo congeladas a -20°C hasta su utilización.

### **3.5. PROCEDIMIENTO DE ABLACIÓN FOLICULAR**

La aspiración transvaginal eco-guiada del folículo dominante fue realizada con un equipo de ultrasonido, equipado con un transductor convexo de 5 MHz y que tiene una guía especial para posicionar la aguja de aspiración a lo largo de la línea de punción. Este procedimiento se adaptó a partir de lo reportado por Brück *et al.* (1992) en yeguas. Se realizó la anestesia epidural baja por medio de la aplicación de 2 ml de lidocaína al 2% sin epinefrina a nivel del espacio entre la última vértebra sacra y la primera coccígea para facilitar el manejo del animal. Luego el transductor fue guiado vía transvaginal hasta el fórnix anterior mientras que la mano libre fue introducida por vía rectal para poder fijar el ovario, con su respectivo folículo a aspirar. Una vez el folículo se pudo posicionar al centro en el ecógrafo y observando la línea de punción; se procedió a empujar la aguja de aspiración por medio de su canal hasta ingresar a la cavidad folicular. Este contenido fue aspirado apoyado de una bomba de vacío con una presión que oscilaba entre 70 mm Hg (Ayala *et al.*, 2018). En este estudio, no se contó con algún medio de mantenimiento del contenido folicular ni se tuvo en consideración el factor de la temperatura, debido a que únicamente se buscaba la eliminación del folículo dominante.

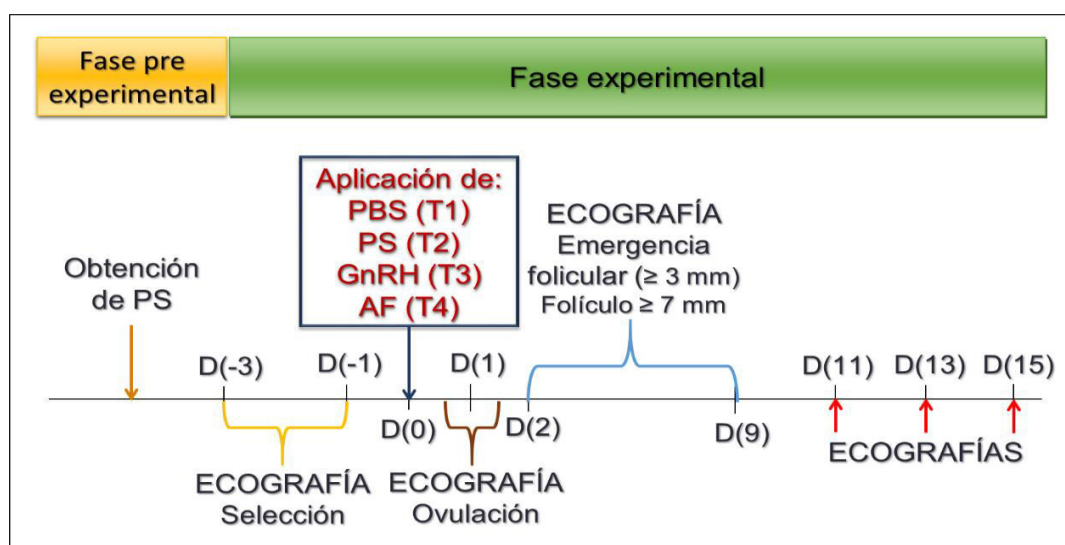
### **3.6. DISEÑO EXPERIMENTAL**

Con el fin de la creación de los grupos experimentales, se evaluaron a las llamas mediante ecografía transrectal previamente a la selección. Los animales que contaron con la presencia de un folículo dominante o  $\geq 7$  mm de diámetro evaluados por dos días consecutivos fueron seleccionados y asignados aleatoriamente en 4 grupos; al primer grupo se le aplicó 1 ml de Fosfato Buffer Salino (PBS), al segundo grupo se le aplicó 2 ml de plasma seminal diluido en volumen de 1:1 en PBS, al tercer grupo se le aplicó 1 ml de GnRH (0.0084 mg de buserelina acetato, Conceptase®) y al cuarto grupo se le realizó la aspiración transvaginal del folículo dominante (Ablación folicular); los primeros 3 tratamientos mencionados fueron aplicados vía intramuscular. (Cuadro 1)

**Cuadro 1. Tratamientos experimentales**

Grupo	Tratamiento	Nº de animales
T1	Aplicación IM de 1 ml de Fosfato Buffer Salino (PBS)	6
T2	Aplicación IM de 2 ml de plasma seminal (PS)	6
T3	Aplicación IM de 1 ml de GnRH	6
T4	Ablación folicular (AF)	6

Una vez aplicados los tratamientos (D0), los animales del T1, T2 y T3, fueron evaluados cada dos horas desde las 20 hasta las 36 horas post aplicación del tratamiento, con un ecógrafo modelo ALOKA SSD 500 equipado con un transductor lineal rectal de 5 MHz, para determinar: a) Intervalo a la ovulación, tomando como sustento la ausencia del folículo previamente observado. Se consideraron como animales ovulatorios aquellos que ovularon hasta las 36 horas post-estímulo. Luego, los animales de todos los tratamientos fueron evaluados en forma diaria hasta el día 9 post aplicación del estímulo y a partir de allí, pasaron a ser de manera interdiaria hasta el día 15 post aplicación del estímulo. Las evaluaciones ecográficas fueron realizadas con un ecógrafo ALOKA SSD 500 y un transductor lineal modo B de 7.5 MHz, para determinar: b) Intervalo a la emergencia de una nueva onda folicular, a partir de la observación de folículos  $\geq 3$  mm; c) Intervalo a la presencia de un folículo  $\geq 7$  mm.

**Fig 1. Diseño experimental**



### **3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Las mediciones del intervalo de tratamiento a la ocurrencia de ovulación, intervalo de tratamiento a la emergencia de folículos  $\geq 3$  mm, intervalo de tratamiento a folículos  $\geq 7$  mm, han sido analizados mediante una prueba de análisis de varianza (ANOVA).

## IV. RESULTADOS

### 4.1. Intervalo a la presencia de folículos $\geq 3$ mm y al nuevo folículo dominante

El intervalo desde la aplicación de los tratamientos hasta la observación de los folículos  $\geq 3$  mm y al nuevo folículo  $\geq 7$  mm (nuevo folículo dominante), mediante ultrasonografía, fue similar para los cuatro grupos. (Cuadro 2)

**Cuadro 2. Intervalo en días desde la aplicación de los tratamientos hasta la aparición de folículos  $\geq 3$  mm y folículos  $\geq 7$  mm en llamas (promedio  $\pm$  desviación estándar)**

	Control	PS	GnRH	AF
Intervalo a la aparición de folículos $\geq 3$ mm (d)	2.00 $\pm$ 0	2.00 $\pm$ 0	2.00 $\pm$ 0	2.00 $\pm$ 0
Intervalo al nuevo folículo dominante (d)	10.17 $\pm$ 4.12	9.17 $\pm$ 2.93	8.33 $\pm$ 2.66	7.83 $\pm$ 3.25
n	6/6	6/6	6/6	6/6

La diferencia entre grupos no es estadísticamente significativa ( $p > 0.05$ )  
n: número de animales

### 4.2. Intervalo a la ovulación y tamaño del cuerpo lúteo

Al realizar las ecografías transrectales con un intervalo de 2 horas entre las 20 a 36 horas post-aplicación de los tratamientos, no hubo diferencia significativa entre el tiempo de ovulación para el grupo de PS y GnRH. De igual manera, dichos

tratamientos generaron un cuerpo lúteo con tamaño similar, al día 8 post-tratamiento.  
(Cuadro 3)

**Cuadro 3. Intervalo en horas desde la aplicación de los tratamientos hasta la ovulación y tamaño del cuerpo lúteo al día 8 post aplicación de los tratamientos, en llamas (promedio  $\pm$  desviación estándar)**

	Control	PS	GnRH	AF
<b>Tamaño folicular al inicio (mm)</b>	10.00 $\pm$ 2.10	8.17 $\pm$ 1.17	9.67 $\pm$ 3.88	12.17 $\pm$ 6.82
<b>Intervalo a la ovulación (h)</b>	-	30.00 $\pm$ 2.10	29.33 $\pm$ 1.51	-
<b>Tasa de ovulación</b>	0/6 (0%)	6/6 (100%)	6/6 (100%)	0/6 (0%)
<b>Tamaño del cuerpo lúteo (mm)</b>	-	8.33 $\pm$ 1.51	8.50 $\pm$ 1.23	-

La diferencia entre grupos no es estadísticamente significativa ( $p > 0.05$ )

## V. DISCUSIÓN

Basado en los resultados obtenidos, no habría diferencia significativa entre el tiempo desde que se aplicaron los tratamientos al momento en que se observaron folículos  $\geq 3$  mm, el intervalo al nuevo folículo dominante, el intervalo a la ovulación y el diámetro del cuerpo lúteo al día 8 post-tratamiento. Por lo cual, se podría promover el uso del plasma seminal como un inductor de ovulación que forme parte de protocolos de superestimulación ovárica, al contar con un efecto similar al de la aplicación de GnRH y ablación folicular sobre algunos de los intervalos que caracterizan a la dinámica folicular en llamas.

Para la determinación del intervalo de tiempo desde la aplicación del tratamiento hasta la emergencia de una nueva onda folicular, se tuvo como criterio considerar el momento en que se observen folículos  $\geq 3$  mm, ya que estudios previos sugieren que este parece ser el tamaño en el cual los folículos antrales pasan a ser dependientes de gonadotropinas, en alpacas (Vaughan *et al.*, 2004). De igual manera, en dromedarios, según lo reportado por Manjunatha *et al.* (2012), a partir de la presencia de folículos entre 3 a 4 mm de diámetro es donde uno de ellos continuará su crecimiento hasta alcanzar el estadio de folículo dominante, junto con la regresión de los demás folículos.

El intervalo desde la aplicación de tratamientos a la emergencia de una nueva onda folicular encontrado en este estudio puede atribuirse a lo descrito por Cavilla *et al.*

(2013), sucediendo un tipo de solapamiento por parte de la emergencia de ondas foliculares sucesivas, generando que la emergencia de una nueva onda folicular se presente el mismo día (día 2 post-tratamiento) para todos los grupos, incluyendo el control. De manera similar, estudios previos realizados por Ratto *et al.* (2003) y Andrade (2007) reportan dicho intervalo para su grupo control de  $3.7 \pm 1.0$  y  $4.7 \pm 1.2$  días, respectivamente; siendo similar a lo encontrado en el presente estudio.

Con respecto a la realización de ablación folicular y aplicación de GnRH, se han reportado intervalos a la emergencia de una nueva onda folicular de  $3.1 \pm 0.9$  (Ratto *et al.*, 2003) y de  $4.6 \pm 1.2$  (Andrade, 2007) días, respectivamente. Siendo Andrade (2007) quien realizó ecografías diarias desde el día 3 post-tratamiento, mientras que Ratto *et al.* (2003) realizó un monitoreo de manera diaria hasta el día 20 post-tratamiento. Sin embargo, en el presente estudio las ecografías se realizaron con una frecuencia de cada 2 horas entre las 20 a 36 horas post-aplicación del tratamiento, con el único objetivo de determinar la desaparición del folículo dominante inicial; posteriormente, fueron realizadas de manera diaria a partir del día 2 post-tratamiento para la obtención de los demás intervalos. Por lo cual, al no encontrar una diferencia en días entre alguno de los grupos no se podría afirmar si realmente la emergencia de una nueva onda folicular fue al día 2 o pudo haber sucedido con horas de anticipación, por lo que se consideró pertinente considerar el termino de aparición o presencia de folículos  $\geq 3$  mm en el presente trabajo.

En un estudio reciente, Silva *et al.* (2018) realizó las evaluaciones ecográficas cada 12 horas desde la aplicación del tratamiento hasta el día 4 post-aplicación, reportando un intervalo a la emergencia de una nueva onda folicular de  $1.8 \pm 0.4$  días, realizando ablación folicular en llamas. De tal manera que, la metodología del experimento puede modificar los intervalos encontrados desde la aplicación de los tratamientos hasta la emergencia de una nueva onda folicular.

A su vez, se debe tener en cuenta lo reportado por Bianchi *et al.* (2018), quienes encontraron una diferencia al estimular con GnRH en los 3 estados foliculares; siendo el estímulo a un folículo dominante en estado de regresión más corto en presentar la emergencia de una nueva onda folicular, exactamente entre 1 a 2 días post-estímulo;

mientras que en el caso de los folículos en estadio de crecimiento o estática tuvo un intervalo de 3 días en promedio, siendo similar a lo reportado por Nikjou et al (2008) con un intervalo a la emergencia de una nueva onda folicular de  $3.0 \pm 0.7$  días post-tratamiento en camellos bactrianos que contaban con un folículo dominante maduro, usando GnRH. En el presente estudio, debido al tiempo y manejo de los animales, al haber realizado dos días previos de ecografías para la selección de los grupos, considerando como principal criterio de inclusión el que presenten un folículo mayor o igual a 7 mm, sin clasificar previamente el estadio de desarrollo folicular, pero constatando la ausencia de cambios en el tamaño folicular, nos sugiere que los folículos se encontraban en estadio estático. Sin embargo, los resultados del estudio con respecto al estadio folicular del folículo dominante difieren de estudios previos.

Con respecto al intervalo de ovulación, nuestros resultados, realizando ultrasonografía transrectal cada 2 horas, muestran que no existen diferencias significativas entre la aplicación con PS o GnRH, siendo de  $30.0 \pm 2.1$  y  $29.3 \pm 1.5$  horas, respectivamente. Lo cual no difiere de lo reportado por otros autores apoyados en la ecografía transrectal cada 4 horas. Las ovulaciones fueron detectadas  $29.3 \pm 0.7$  horas después del tratamiento con PS (Adams *et al.*, 2005), similar al tratamiento con GnRH de  $29.3 \pm 0.6$  horas (Ratto *et al.*, 2006), confirmándose así el intervalo a la ovulación previamente reportado. De esta manera, los resultados obtenidos en el presente estudio afirman la obtención de la capacidad ovulatoria por parte de los folículos que poseen un diámetro  $\geq 7$  mm, siendo estos sensibles a la secreción pulsátil de la LH inducida por la administración de GnRH o del PS.

En cuanto al diámetro del cuerpo lúteo, se optó por tener en cuenta el diámetro de este al día 8 post-estímulo, debido a que en este día alcanza su máximo diámetro (Adams *et al.*, 1991). De acuerdo a los resultados del presente estudio no encontramos diferencia significativa entre el estímulo con GnRH y PS, siendo de  $8.5 \pm 1.2$  mm y  $8.3 \pm 1.5$  mm, respectivamente. Adams *et al.* (2005) obtuvieron un cuerpo lúteo con diámetro de  $11.5 \pm 0.5$  mm, aplicando GnRH; mientras que, con la aplicación de PS se obtuvieron diámetros de  $10.1 \pm 0.3$  mm (Ratto *et al.*, 2006) y  $12.2 \pm 0.4$  mm, (Adams *et al.*, 2005). Esto puede atribuirse al tamaño del folículo dominante al momento de inducir la ovulación, que en el caso de los estudios con PS fueron de  $9.0 \pm 0.3$  mm (Ratto *et al.*,

2006) y  $10.9 \pm 0.2$  mm (Adams *et al.*, 2005); mientras que con GnRH fue de  $10.5 \pm 0.2$  mm (Adams *et al.*, 2005). En el presente estudio se trabajaron con animales con un folículo dominante de  $8.1 \pm 1.1$  mm y  $9.6 \pm 3.8$  mm, para PS y GnRH, respectivamente. Dejando entrever que más allá de saber que el diámetro del folículo dominante para inducir la ovulación debe ser  $\geq 7$  mm, se debe tomar en cuenta los rangos de tamaños de dichos folículos para asegurar la formación de un cuerpo lúteo de mayor tamaño y asegurar de esa manera la gestación.

Haciendo énfasis en el tamaño folicular de los animales usados en este experimento, habiéndose considerado como diámetro entre 7 mm a 17 mm, solo se contó con una excepción (de 26 mm) la cual fue tomada dentro del grupo de ablación folicular por no contar con mucha disponibilidad de animales. Si bien Bravo *et al.* (1992) ha reportado en llamas como folículo quístico aquel con un diámetro mayor a 12 mm, en el presente trabajo se han reportado animales con folículos de hasta 17 mm que han llegado a ovular. Esto concuerda con lo encontrado por Aller (1996) en el caso de folículos de 25 mm contando con una tasa de regresión normal, lo cual nos hace replantearnos a cerca de cuál es el límite máximo del diámetro del folículo dominante en llamas con el que podemos trabajar para no alterar los estudios con tratamientos inductores de la ovulación.

Para fines del estudio, no se tomó en cuenta los efectos de los tratamientos en las siguientes ondas foliculares, dado que todo se infirió a partir de la primera onda post-sincronización.

## **VI. CONCLUSIONES**

1. Tanto el tiempo a la aparición de los folículos  $\geq 3$  mm como el intervalo a la aparición de un nuevo folículo dominante no son diferentes entre grupos, en llamas.
2. El intervalo de tiempo desde la aplicación del tratamiento a la ovulación y el diámetro del cuerpo lúteo al día 8 post-aplicación son similares entre los grupos de PS y GnRH, en llamas.



## **VII. RECOMENDACIONES**

- Para determinar el intervalo en tiempo a la emergencia de una nueva onda folicular (aparición de folículos  $\geq 3$  mm) se podrían realizar las ecografías cada 2 o 4 horas hasta determinar la presencia de folículos  $\geq 3$  mm.
- Determinar el efecto de los tratamientos sobre la emergencia folicular acorde al tamaño de los folículos dominantes, al inicio del tratamiento.

## VIII. LITERATURA CITADA

1. **Aba MA. 1995.** Studies on the reproductive endocrinology of llamas and alpacas from mating throughout early pregnancy. Master Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences. 78 p.
2. **Aba MA, Forsberg M, Kindahl H, Sumar J, Edqvist LE. 1995.** Endocrine changes after mating in pregnant and non-pregnant llamas and alpacas. *Acta Vet Scand* 36(4): 489-498.
3. **Aba MA, Quiroga MA, Auza N, Forsberg M, Kindahl H. 1999.** Control of ovarian activity in llamas (*Lama glama*) with medroxyprogesterone acetate. *Reprod Dom Anim* 34(6): 471-476.
4. **Adams GP, Griffin PG, Ginther OJ. 1989.** In situ morphologic dynamics of ovaries, uterus and cervix in llamas. *Biol Reprod* 41(3): 551-558.
5. **Adams GP, Sumar J, Ginther OJ. 1990.** Effects of lactational and reproductive status on ovarian follicular waves in llamas (*Lama glama*). *J Reprod Fertil* 90(2): 535-545.
6. **Adams GP, Sumar J, Ginther OJ. 1991.** Form and function of the corpus luteum in llamas. *Anim Reprod Sci* 24(1-2): 127-138.
7. **Adams GP. 1999.** Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. *J Reprod Fertil Suppl* 54: 17-32.
8. **Adams GP, Ratto MH. 2001.** Reproductive biotechnology in South American camelids. *Rev Inv Vet Perú* 1: 134-141.
9. **Adams GP, Ratto MH, Huanca W, Singh J. 2005.** Ovulation-inducing factor in the seminal plasma of alpacas and llamas. *Biol Reprod* 73(3): 452-457.
10. **Adams GP, Ratto MH, Silva ME, Carrasco RA. 2016.** Ovulation-inducing factor (OIF/NGF) in seminal plasma: a review and update. *Reprod Dom Anim Suppl* 51(2): 4-17.
11. **Aller JF, Alberio RH. 1996.** Dinámica folicular en llamas en la época otoño-invernal. *Rev Arg Prod Anim* 16(4): 319-323.
12. **Andrade JC. 2007.** Métodos de sincronización de la onda folicular en base a GnRH y LH y su efecto en la respuesta ovárica y tasa de preñez en alpacas y

llamas. Tesis para optar el grado Magister. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 62 p.

13. **Ayala L, Samaniego J, Nieto P, Rodas R, Dután J, Calle G., Murillo Y, Vázquez J, Argudo D, Perea F. 2018.** Competencia del ovocito bovino obtenido por ovum pick-up valorado mediante el azul brillante de cresilo. *Rev Inv Vet Peru* 29(2): 552-558.
14. **Bianchi CP, Sahlin L, Meikle A, Masironi B, Cavilla MV, Aba MA. 2010.** Endometrial population of oestrogen receptors alpha and beta and progesterone receptors A and B during the different phases of the follicular wave of llamas (*Lama glama*). *Reprod Dom Anim* 45(5): 872-880.
15. **Bianchi CP, Benavente MA, Simonetti M, Aba MA. 2018.** Synchronization of time of ovarian follicular development in llamas (*Lama glama*) using a protocol based on GnRH and PGF2a. *Anim Reprod Sci* 192: 200-205.
16. **Bogle OA, Ratto MH, Adams GP. 2011.** Evidence for the conservation of biological activity of ovulation- inducing factor (OIF) in seminal plasma. *Reproduction* 142(2): 277–283.
17. **Bourke DA, Adam CL, Kyle CE. 1992.** Ultrasonography as an aid to controlled breeding in the llama (*Lama glama*). *Vet Rec* 130(19): 424-428.
18. **Bravo PW, Sumar J. 1989.** Laparoscopic examination of the ovarian activity in alpacas. *Anim Reprod Sci* 21(2-4): 271-281.
19. **Bravo PW, Fowler ME, Stabenfeldt GH, Lasley BL. 1990.** Ovarian Follicular Dynamics in the Llama. *Biol Reprod* 43(4): 579-585.
20. **Bravo PW, Stabenfeldt GH, Lasley BL, Fowler ME. 1991.** The effect of ovarian follicle size on pituitary and ovarian responses to copulation in domesticated South American camelids. *Biol Reprod* 45(4): 553-559.
21. **Bravo PW, Stabenfeldt GH, Fowler ME, Lasley BL. 1992.** Pituitary Response to repeated copulation and/or Gonadotropin-Releasing Hormone administration in llamas and alpacas. *Biol Reprod* 47(5): 884-888.
22. **Bravo PW. 1994.** Reproductive endocrinology of llamas and alpacas. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 10(2): 265-279.
23. **Brown BW. 2000.** A review on reproduction in South American camelids. *Anim Reprod Sci* 58(3-4): 169-195.

24. **Brück I, Raun K, Synnestvedt B, Greve T. 1992.** Follicle aspiration in the mare using a transvaginal ultrasound-guided technique. *Equine Vet J* 24(1): 58-59.
25. **Cancino AK, Aller JF, Rebuffi G, Alberio RH. 2011.** Control de la dinámica follicular ovárica en llamas (*Lama glama*) en posparto temprano. *Arch Zootec* 60(232): 1009-1020.
26. **Cavilla MV, Bianchi CP, Maistruarena C, Aba MA. 2013.** Ultrasonographic and endocrine characterization of follicular waves in llamas with a special reference to the overlapping phenomenon during successive waves. *Reprod Dom Anim* 48(6): 923-930.
27. **Cervero A, Domínguez F, Horcajadas JA, Quiñonero A, Pellicer A, Simón C. 2006.** The role of the leptin in reproduction. *Curr Opin Obstet Gynecol* 18(3): 297-303.
28. **Chaves MG, Aba M, Agüero A, Egey J, Berestin V, Rutter B. 2002.** Ovarian follicular wave pattern and the effect of exogenous progesterone on follicular activity in non-mated llamas. *Anim Reprod Sci* 69(1-2): 37-46.
29. **Chen BX, Yuen ZX, Pan GW. 1985.** Semen-induced ovulation in the bactrian camel (*Camelus bactrianus*). *J Reprod Fertil*. 74(2): 335-339.
30. **Chiri R, Mollo J, Sempertegui G. 2001.** Determinación de la pubertad en la llama hembra (*Lama glama*). *Rev Inv Cam Sud* n°1. Universidad Técnica de Oruro.
31. **Codjambassis FA. 2012.** Efectos del factor inductor de ovulación de llamo (*Lama glama*) sobre la dinámica folicular y luteogenesis en ovinos. Tesis para optar el grado de Médico Veterinario. Universidad Austral de Chile. 27 p.
32. **England BG, Foote WC, Matthews DH, Cardozo AG, Riera S. 1969.** Ovulation and corpus luteum function in the llama (*Lama glama*). *J Endocrinol* 45(4): 505-513.
33. **England BG, Foote WC, Cardozo AG, Matthews DH, Riera S. 1971.** Oestrus and mating behavior in the llama (*Lama glama*). *Anim Behav* 19(4): 722-726.
34. **El-Allali K, El Bousmaki N, Ainani H, Simonneaux V. 2017.** Effect of the Camelid's Seminal Plasma Ovulation-Inducing Factor/ $\beta$ -NGF: A Kisspeptin Target Hypothesis. *Front Vet Sci* 4(99): 12 p.

35. **Fernández-Baca S, Madden DH, Novoa C. 1970.** Effect of different mating stimuli on induction of ovulation in the alpaca. *J Reprod Fertil* 22(2): 261-267.
36. **Fernández-Baca S, Novoa C, Sumar J. 1972.** Actividad reproductiva en la alpaca mantenida en separación del macho. *Mem Asoc Lat Amer Prod Anim* 7: 7-18.
37. **Fernández-Baca S, Sumar J, Novoa C, Leyva V. 1973.** Relación entre la ubicación del cuerpo lúteo y la localización del embrión en la alpaca. *Rev Inv Pec* 2(2): 131-135.
38. **Fernández-Baca S. 1993.** Manipulation of reproductive functions in male and female New World camelids. *Anim Reprod Sci* 33(1-4): 307-323.
39. **Ferrer MS, Agüero A, Flores M, Rutter B. 1999.** Citología vaginal en distintas fases de la dinámica folicular en la llama (*Lama glama*). *Rev Bras Reprod Anim* 23: 207-209.
40. **Ferrer MS, Agüero A, Chaves MG, Russo AF, Rutter B. 2002.** Sincronización de la onda folicular mediante el uso de buserelina en la llama (*Lama glama*). In *Vet* 4(1): 7-11.
41. **Fink G. 1988.** The G. W. Harris Lecture: steroid control of brain and pituitary function. *Q J Exp Physiol* 73(3): 257-293.
42. **Ginther OJ. 2000.** Selection of the dominant follicle in cattle and horses. *Anim Reprod Sci* 2: 60-79.
43. **Hafez ES, Hafez B. 2000.** Ciclos reproductivos. En: Hafez ES, Hafez B. *Reproducción e Inseminación Artificial en animales*. 7º ed. México. McGraw-Hill. 56-69 p.
44. **Huanca W, Cardenas O, Olazabal C, Ratto MH, Adams GP. 2001.** Efecto hormonal y empadre sobre el intervalo a la ovulación en llamas. *Rev Inv Vet Peru* 1: 462-463.
45. **Huanca W, Cordero A, Huanca T, Adams GP. 2007.** Biotecnologías reproductivas en camélidos sudamericanos: avances y perspectivas. *Arch Latinoam Prod Anim Supl* 15(1): 195-201.
46. **Kershaw-Young CM, Druart X, Vaughan J, Maxwell WM. 2012.**  $\beta$ -Nerve growth factor is a major component of alpaca seminal plasma and induces ovulation in female alpacas. *Reprod Fertil Dev* 24(8): 1093-1097.

47. **Knight TW, Death A, Wyeth T, Hill F. 1992.** Effects of GnRH and of single versus multiple mating on the conception rate in alpacas. *Proc New Zea Soc Anim Prod* 52: 311-312.
48. **Komatsu K, Masubuchi S. 2016.** Observation of the dynamics of follicular development in the ovary. *Reprod Med Biol* 16: 21-27.
49. **León E. 2009.** Anatomía macroscópica, irrigación y drenaje venoso del aparato reproductor femenino de la llama (*Lama glama*). Tesis para optar el título de Médico Veterinario. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 39 p.
50. **Leyva V, Sumar J. 1981.** Evaluación del peso corporal al empadre sobre la capacidad reproductiva de hembras alpaca de un año de edad. En: IV Conv Internacional Camélidos Sudamericanos. Punta Arenas, Chile.
51. **Leyva V, García W. 1999.** Efecto de la prostaglandina sobre la vida del cuerpo lúteo en alpacas. En: II Congreso Mundial sobre Camélidos. 88 p.
52. **López A, Huanca W, Leyva V. 2006.** Inducción de la ovulación en llamas mediante la administración intramuscular del plasma seminal de llama, alpaca y toro. *Rev Inv Vet Perú* 17(2): 114-118.
53. **Mamani R, Huanca T, Pacheco J, Zapana R, Condori N. 2013.** Tasa de ovulación utilizando liberador de gonadotropinas y plasma seminal en alpacas y llamas. *Rev Inv Vet Perú* 24(2): 194-198.
54. **Manjunatha BM, Pratap N, Al-Bulushi S, Hago BE. 2012.** Characterization of ovarian follicular dynamics in dromedary camels (*Camelus dromedarius*). *Theriogenology* 78(5): 965–973
55. **Manjunatha BM, Al-Bulushi S, Pratap N. 2014.** Ultrasonographic characterization of follicle deviation in follicular waves with single dominant and codominant follicles in dromedary camels (*Camelus dromedarius*). *Reprod Dom Anim* 49(2): 239-242.
56. **Mantzoros CS. 2000.** Role of leptin in reproduction. *Ann New York Acad Sci* 900: 174-183.
57. **Miragaya MH, Chaves MG, Agüero A. 2006.** Reproductive Biotechnologies in South American Camelids. *Small Rumin Res* 61(2-3): 299-310.

58. **Motran SH. 2013.** Efectos del plasma seminal de llamo sobre la función ovárica en ovinos. Tesis para optar el título de Médico Veterinario. Universidad Austral de Chile. 19 p.
59. **Nasser LF, Adams GP, Bo GA, Mapletoft RJ. 1993.** Ovarian superstimulatory response relative to follicular wave emergence in heifers. *Theriogenology* 40(4): 713-724.
60. **Nikjou D, Niasari-Naslaji A, Skidmore JA, Mogheiseh A, Razavi K, Gerami A, Ghanbari A. 2008.** Synchronization of follicular wave emergence prior to superovulation in Bactrian camel (*Camelus bactrianus*). *Theriogenology* 69(4): 491-500.
61. **Novoa C. 1970.** Reproduction in camelidae. *J Reprod Fertil* 22(1): 3-20.
62. **Novoa C, Fernández-Baca S, Sumar J, Leyva V. 1972.** Pubertad en la alpaca. *Rev Inv Pec* 1(1): 29-35.
63. **Novoa C, Leyva V. 1996.** Reproducción en alpacas y llamas. Fondo Contravalor Perú-Suiza. Publicación científica IVITA. 26: 32.
64. **Paolicchi F, Urquieta B, Del Valle L, Bustos-Obregón E. 1999.** Biological activity of the seminal plasma of alpacas: stimulus for the production of LH by pituitary cells. *Anim Reprod Sci* 54(3): 203-210.
65. **Patterson JC, Childs GV. 1994.** Nerve growth factor and its receptor in the anterior pituitary. *Endocrinology* 135(4): 1689-1696.
66. **Pollard JC, Littlejohn RP, Scott IC. 1994.** The effects of mating on the sexual receptivity of female alpacas. *Anim Reprod Sci* 34(3-4): 289-297.
67. **Ratto MH, Singh J, Huanca W, Adams GP. 2003.** Ovarian follicular wave synchronization and pregnancy rate after fixed-time natural mating in llamas. *Theriogenology* 60(9): 1645–1656.
68. **Ratto MH. 2005.** Ovarian follicular synchronization, ovulation and oocyte development in llamas and alpacas. Thesis for the degree of Doctor of Philosophy. University of Saskatchewan. 168 p.
69. **Ratto MH, Huanca W, Singh J, Adams GP. 2005.** Local versus systemic effect of ovulation-inducing factor in the seminal plasma of alpacas. *Reprod Biol Endocrinol* 3(1): 29.

70. **Ratto MH, Huanca W, Singh J, Adams GP. 2006.** Comparison of the effect of natural mating, LH, and GnRH on interval to ovulation and luteal function in llamas. *Anim Reprod Sci* 91(3-4): 299-306.
71. **Ratto MH, Leduc YA, Valderrama XP, van Straaten KE, Delbaere LT, Pierson RA, Adams GP. 2012.** The nerve of ovulation-inducing factor in semen. *Proc Natl Acad Sci* 109(37): 15042-15047.
72. **Rosales-Torres AM, Guzmán A, Gutiérrez C. 2012.** Review: Follicular development in domestic ruminants. *Trop Subtrop Agroeco Supl* 15(1): 147-160.
73. **San Martin M, Copaira M, Zuniga J, Rodreguez R, Bustinza G, Acosta L. 1968.** Aspects of reproduction in the alpaca. *J Reprod Fertil* 16(3): 395-399.
74. **Santiani A, Leyva V, García W. 2002.** Efecto inhibitorio de la progesterona sobre el desarrollo de la onda folicular en llamas. *Rev Inv Vet Perú* 13(2): 10-17.
75. **Sato A, Valencia RA, Montoya L. 1986.** Revisión anatómica del aparato reproductor de la alpaca hembra (*Lama pacos*). *Rev Cam Sud* 2: 4-8.
76. **Silva ME, Niño A, Guerra M, Letelier C, Valderrama XP, Adams GP, Ratto MH. 2011.** Is an ovulation-inducing factor (OIF) present in the seminal plasma of rabbits?. *Anim Reprod Sci* 127(3-4): 213-221.
77. **Silva ME, Recabarren MP, Recabarren SE, Adams GP, Ratto MH. 2012.** Ovarian estradiol modulates the stimulatory effect of ovulation-inducing factor (OIF) on pituitary LH secretion in llamas. *Theriogenology* 77(9): 1873-1882.
78. **Silva ME, Ulloa-Leal C, Norambuena C, Fernández A, Adams GP, Ratto MH. 2014.** Ovulation-inducing factor (OIF/NGF) from seminal plasma origin enhances corpus luteum function in llamas regardless the preovulatory follicle diameter. *Anim Reprod Sci* 148(3-4): 221-227.
79. **Silva ME, Urrea F, Ratto MH. 2018.** Uterine endometrial vascularization during ovarian follicular growth in llamas: The effect of estradiol plasma concentration. *Theriogenology* 106: 164-169.
80. **Smith CL, Peter AT, Pugh DG. 1994.** Reproduction in llamas and alpacas: a review. *Theriogenology* 41(3): 573-592.
81. **Sumar JB. 1985.** Reproductive physiology in South American camelids. En: Instituto Veterinario de Investigación Tropical y de Altura (IVITA): 81-95.



82. **Sumar JB. 1996.** Reproduction in llamas and alpacas. *Anim Reprod Sci* 42(1-4): 405-415.
83. **Sumar JB. 1999.** Reproduction in female South American domestic camelids. *J Reprod Fertil Suppl* 54: 169-178.
84. **Sumar JB. 2000.** Llamas y alpacas. En: Hafez ES, Hafez B. *Reproducción e Inseminación Artificial en animales*. 7° ed. México. McGraw– Hill. 224-242 p.
85. **Tanco VM, Van Steelandt MD, Ratto MH, Adams GP. 2012.** Effect of purified llama ovulation- inducing factor (OIF) on ovarian function in cattle. *Theriogenology* 78(5): 1030-1039.
86. **Tibary A. 2018.** Monitoring and controlling follicular activity in camelids. *Theriogenology* 109: 22-30.
87. **Trasorras VL, Giuliano S, Miragaya MH. 2013.** In vitro production of embryos in South American camelids. *Anim Reprod Sci* 136(3): 187-193.
88. **Vaughan JL. 2001.** Control of ovarian follicular growth in the alpaca (*Lama pacos*). PhD Thesis. Central Queensland University.
89. **Vaughan JL, Macmillan KL, D'Occhio MJ. 2004.** Ovarian follicular wave characteristics in alpacas. *Anim Reprod Sci* 80(3-4): 353-361.
90. **Vaughan JL, Tibary A. 2006.** Reproduction in female South American camelids: A review and clinical observations. *Small Rum Res* 61(2-3): 259-281.
91. **Webb R, Nicholas B, Gong JG, Campbell BK, Gutierrez CG, Garverick HA, Armstrong DG. 2003.** Mechanisms regulating follicular development and selection of the dominant follicle. *Reprod. Suppl* 61: 71-90.
92. **Velásquez F, Málaga J, Bravo PW. 1999.** Citología exfoliativa del útero de la alpaca. En: II Congreso Mundial sobre Camélidos. N°84.

## IX. APÉNDICE

Animal	Tamaño del folículo dominante (mm)	Tratamiento	Tiempo a la Ovulación (h)	Intervalo Fol. $\geq$ 3mm (d)	Intervalo Fol. $\geq$ 7mm (d)	CL - Día 8 (mm)
1	8	PS	29	2	13	6
2	9	PS	31	2	6	8
3	8	PS	29	2	8	10
4	10	PS	27	2	11	8
5	7	PS	33	2	6	8
6	7	PS	31	2	11	10
7	7	GnRH	29	2	8	7
8	10	GnRH	27	2	9	9
9	7	GnRH	31	2	8	7
10	7	GnRH	31	2	5	9
11	17	GnRH	29	2	13	10
12	10	GnRH	29	2	7	9
13	8	AF	-	2	8	-
14	26	AF	-	2	6	-
15	10	AF	-	2	13	-
16	9	AF	-	2	10	-
17	10	AF	-	2	6	-
18	10	AF	-	2	4	-
19	10	PBS	-	2	11	-
20	10	PBS	-	2	7	-
21	14	PBS	-	2	7	-
22	8	PBS	-	2	15	-
23	9	PBS	-	2	6	-
24	9	PBS	-	2	15	-